

# Detecção eletroquímica de $\alpha$ -amilase utilizando eletrodos impressos: alternativa simples para o diagnóstico de pancreatite

Luiza N. Guimarães (IC), Paulo T. Garcia (PG), Anderson A. Dias (PG) e Wendell K. T. Coltro\* (PQ)

Grupo de Métodos Eletroforéticos, Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Goiânia/GO, Brasil.

\*wendell@ufg.br

Palavras Chave: Bioanalítica, amperometria, maltose e point-of-care.

## Abstract

Electrochemical detection of  $\alpha$ -amylase using screen-printed electrodes: simple alternative for pancreatitis diagnosis. We describe the development of a new methodology for  $\alpha$ -amylase detection with potential to be used at point-of-care.

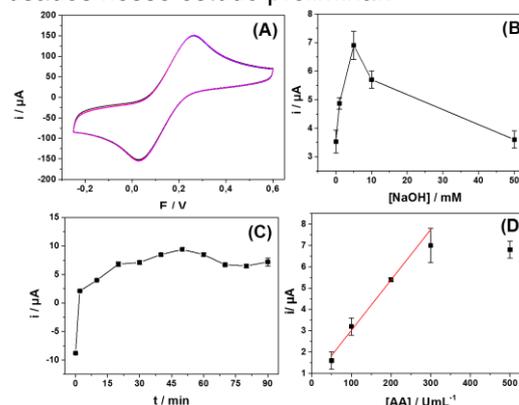
## Introdução

A  $\alpha$ -amilase (AA) é uma enzima de grande interesse em estudos bioanalíticos, devido sua utilização como biomarcador da inflamação pancreática [1]. Essa patologia necessita de diagnóstico emergencial devido seu alto índice de mortalidade nas primeiras horas. Alguns métodos vêm sendo desenvolvidos para dosagem dos níveis de AA, e o mais recente baseia-se em um leitor potenciométrico da conversão de  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  em  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ , realizada pela maltose gerada na hidrólise da AA pelo amido [2]. Porém, se faz necessário o desenvolvimento de um método simples, barato e acessível para determinação no local de necessidade (*point-of-care*). Diante disso, este trabalho objetivou utilizar eletrodos impressos de carbono para determinação amperométrica de AA.

## Resultados e Discussão

Utilizou-se eletrodos impressos de carbono (modelo DS-110 DropSens®) como alternativa para determinação eletroquímica da AA com intuito final de integrar os eletrodos em plataformas microfluídicas de papel. Inicialmente, o sistema proposto foi avaliado utilizando uma solução 5 mM de ferro/ferrí em KCl 0,1 M a 50 mV/s (Fig. 1A) com o auxílio de um minipotenciostato (DropSens®). Em seguida, iniciou-se as etapas de otimização dos parâmetros reacionais, visando a utilização do sistema para determinação da AA através da reação mencionada anteriormente, porém utilizando a detecção amperométrica sob aplicação do potencial de conversão do produto  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$  em  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  (0,23 V vs Ag/AgCl). Primeiramente otimizou-se o pH do meio reacional através da variação da concentração de NaOH adicionada à uma solução padrão do produto reacional  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$  40 mM. A concentração de NaOH igual a 5 mM forneceu o melhor sinal analítico (Fig. 1 B), uma vez que o pH foi posteriormente medido e obtido um valor de 12, o qual é o ideal para a reação. Assim, fixou-se essa concentração de NaOH para as demais etapas. O tempo reacional foi outro parâmetro avaliado, com o intuito de obter valores positivos de corrente, que

indicassem a formação do produto. Para isso, realizou-se a reação entre uma solução contendo maltose 50 mM (preparada em tampão fosfato pH 7,0),  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$  100 mM e NaOH 5 mM e mediu-se as correntes ao longo de 90 min. A melhor resposta analítica foi obtida com um tempo de 50 min, porém, como é um tempo relativamente longo visando diagnóstico no *point-of-care*, escolheu-se o tempo de 20 min, que também forneceu um ganho satisfatório na corrente ( $6,8 \pm 0,4 \mu\text{A}$ ) (Fig. 1 C). Por fim, avaliou-se o desempenho do sistema eletroquímico proposto através da construção de uma curva analítica de AA. Obteve-se perfil linear na faixa de concentração de 0 a 300 U/mL ( $R^2 = 0,98$ ) (Fig. 1D), a qual compreende os níveis salivares. Diante disso, percebe-se que o sistema proposto possui potencialidade para determinação de AA visando o diagnóstico de pancreatite. Etapas futuras serão direcionadas para melhorar a detectabilidade, visando aplicação em amostras de soro sanguíneo, cujos níveis de AA são inferiores aos usados nesse estudo preliminar.



**Figura 1.** Apresentação (A) do voltamograma cíclico obtido para a sonda redox  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-} / \text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ ; da otimização (B) do pH e (C) tempo reacional e (D) uma curva de calibração para AA.

## Conclusões

Diante dos dados apresentados, conclui-se que o sistema proposto mostrou-se eficaz e de grande potencialidade para aplicação no diagnóstico de pancreatite, utilizando um método mais simples do que os já propostos para essa reação.

## Agradecimentos

CAPES, CNPq, UFG, FAPEG e INCTBio.

[1] Dutta, S.; Mandal, N.; e Bandyopadhyay, D. *Biosensors. and Bioelectronics.* **2016**, *78*, 447.

[2] Zhan, L.; Yang, W.; Yang, Y. e Gu, Z. *Analyst.* **2015**, *140*, 7399.